

Title	Dominant expression of ATP-binding cassette transporter-1 on basolateral surface of Caco-2 cells stimulated by LXR/RXR ligands
Author(s)	大濱, 透
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45302
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について /a> をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	おお はま とおる 大 濱 透
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 4 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	Dominant expression of ATP-binding cassette transporter-1 on basolateral surface of Caco-2 cells stimulated by LXR/RXR ligands (ATP-binding cassette transporter-1 (ABCA1) は LXR/RXR ligands 刺激下でヒト腸上皮細胞モデルの Caco-2 細胞において basolateral 側に優位に発現する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 金 倉 謙 (副査) 教 授 下村伊一郎 教 授 荻原 俊男

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

多くの疫学的研究から冠動脈疾患と血清 HDL コレステロール濃度との間には負の相関関係があることが知られている。コレステロール逆転送系は動脈硬化に対する防御機構の一つであり、lipid poor HDL が末梢血管の泡沫細胞からコレステロールを引き抜き、肝臓に転送し、異化させ、胆汁として分泌させる過程である。遺伝的 HDL 欠損症であるタンジール病患者ではコレステロール逆転送の第一段階であるコレステロール引き抜きが出来ず、強い動脈硬化を来すことをこれまで我々は報告してきた。近年タンジール病の原因遺伝子が ATP-binding cassette transporter-1 (ABCA1) であることが明らかにされ、肝臓、小腸、マクロファージなどに発現しており、ABCA1 が原始 HDL の産生に関与している可能性が考えられた。ヒト小腸においては脂質の吸収、カイロミクロン産生、分泌や胆汁酸の腸肝循環、さらに原始 HDL の産生、分泌の可能性など脂質代謝に重要な役割を果たしているものと考えられている。そこで、本研究の目的は、腸上皮細胞モデルとして Caco-2 細胞を用いて、ABCA1 の極性発現やコレステロール引き抜きについての検討を行い、ABCA1 の小腸での役割を解析することとした。

[方法ならびに成績]

腸上皮細胞モデルとして Caco-2 細胞を用い、Transwell の系を用いて ABCA1 の極性発現、コレステロール搬出現象を解析した。まず Caco-2 細胞は分化に伴い、ABCA1 の発現増強と LXR/RXR リガンド投与により発現誘導を認めた。次に LXR/RXR リガンド刺激の有無で Transwell の上下いずれかのチャンバーに ApoA1 を入れ、4 時間、16 時間培養後のコレステロール引き抜きを検討した。4 時間培養で LXR/RXR リガンド刺激下における basolateral 側へのコレステロール引き抜きが有意に増加しており、16 時間でその差がより顕著になった。このコレステロール引き抜きの結果と ABCA1 の極性発現との関連を検討するために細胞表面ビオチン化による発現分布の検討と共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った。細胞表面 ABCA1 は、basolateral 側で優位に発現しており、LXR/RXR リガンド投与により、顕著に basolateral 側での発現増強を認めた。また共焦点レーザー顕微鏡による ABCA1 と Caco-2 細胞の

basolateral marker である Ag525 との免疫 2 重染色では共染され、tight junction marker である Zo-1 との 2 重染色では共染されなかったことから、ABCA1 は basolateral 側に優位に発現していることが明らかにされた。またヒト小腸切片における ABCA1 と apical marker である sucrase isomaltase との免疫 2 重染色を行ったところ、共染されなかった。

次に小腸において ABCA1 が basolateral 側に発現している意義として、原始 HDL の産生に関与している可能性を考えた。Caco-2 細胞において LXR/RXR リガンドの刺激/非刺激下で、下方のメディウムを回収し、2 次元電気泳動を施行した。HDL の成熟に重要な役割を持つ LCAT 活性がない状態では、刺激下で pre β HDL 付近の band の増加を認めた。LCAT 活性残存下では、pre β 位には band を認めなかったが、 α HDL 位に強い band を認め、LXR/RXR リガンドの刺激により、 α HDL は増加した。

[総括]

ABCA1 がヒト腸上皮細胞やヒト小腸組織において basolateral 側に優位に極性発現していることを明らかにした。ABCA1 が basolateral 側に有意に発現する意義として、原始 HDL 合成に関与している可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

多くの疫学的研究から冠動脈疾患と血清 HDL コレステロール濃度との間に逆相関を認めることが知られている。また遺伝的 HDL 欠損症であるタンジール病は、強い動脈硬化を来す。近年タンジール病の原因遺伝子が ATP-binding cassette transporter-1 (ABCA1) であり、本分子は肝臓、小腸などに発現していることが明らかにされた。小腸は食事由来脂質の吸収、カイロミクロン産生、分泌の他に原始 HDL の産生、分泌の可能性なども示唆されてきたが、詳細は不明であった。

本研究により小腸では ABCA1 が側基底側（血管、リンパ管側）に優位に発現しており、核内受容体 LXR/RXR の活性化により、発現が増強し、側基底側に原始 HDL を産生、分泌していることを示した。このことは、内因性コレステロールから原始 HDL を産生する肝臓とは別に、小腸では食事由来脂質に反応して、原始 HDL を産生している可能性を示唆し、HDL 産生経路の一つを明らかにしたものであり、学位に値する。